

Introdução

✓ O câncer gástrico é o terceiro tipo de tumor com maior incidência no Brasil e a segunda causa de morte por câncer no mundo. O tratamento clínico convencional para essa doença envolve cirurgia, quimioterapia e radioterapia. A quimiorresistência prevalece como o maior desafio no tratamento de câncer gástrico e estudos já demonstraram que as possíveis responsáveis pela resistência a diferentes quimioterápicos são as células-tronco tumorais, capazes de gerar tumores por meio de auto-renovação e diferenciação, semelhantes àqueles realizados por células-tronco normais, sendo, desse modo, responsáveis pelo crescimento do tumor e pela formação de metástases. Nesse sentido, é de grande importância a prospecção de novos quimioterápicos no tratamento dessa patologia. Um estudo feito pelo nosso grupo de pesquisa identificou como novos alvos potenciais no tratamento quimioterápico de câncer gástrico as proteínas AURORA B (AURKB) e NDC80, inibidas pelas drogas experimentais ZM447439 e INH1, respectivamente.

Objetivos

- ✓ Verificar a presença de células tumorais com características tronco em linhagens celulares de câncer gástrico para, em seguida, avaliar o efeito dos compostos experimentais sobre essas células.
- ✓ Avaliar o ciclo celular das linhagens estudadas após exposição às drogas.

Metodologias

- ✓ **Células:** linhagens de adenocarcinoma gástrico primário humano ACP02 e ACP03.
- ✓ **Tratamento:** 5-FU 1,2 μ M (controle positivo), ZM447439 2,0 μ M e INH1 30,0 μ M (IC_{50} para cada droga foi determinado previamente).
- ✓ **Análise de expressão gênica:** RT-PCR convencional para os marcadores de células-tronco tumorais LGR5, CD24, CD44 e CD133.
- ✓ **Ensaio de formação de esferas:** cultivo em placas de 96 poços tratadas para não aderência, utilizando meio sem soro e fazendo acompanhamento das células tratadas e não tratadas durante 14 dias.
- ✓ **Ciclo celular:** marcação com iodeto de propídio com posterior citometria de fluxo para avaliação do ciclo celular das células após 5 dias de cada tratamento.
- ✓ **Análise estatística:** teste t de Student, $p < 0,05$.

Resultados

Análise de expressão gênica

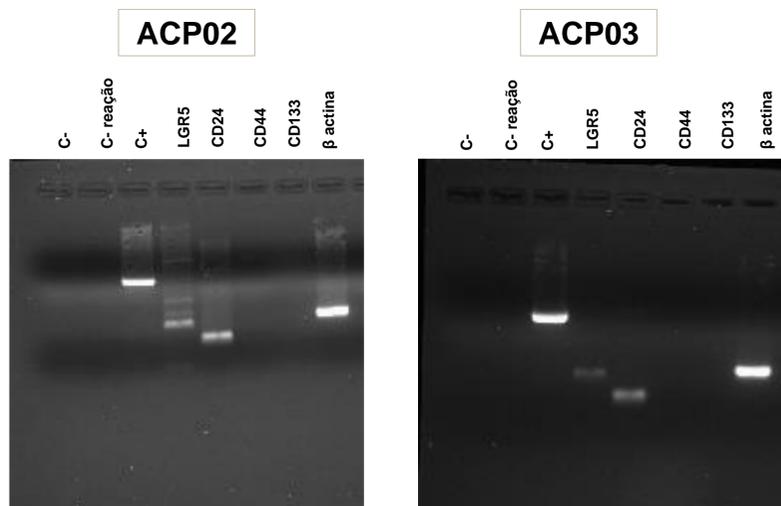


Fig. 1: Análise da expressão gênica de marcadores de células-tronco tumorais por RT-PCR convencional. Foi observada a expressão dos marcadores LGR5 e CD24 em ambas as linhagens.

Ensaio de formação de esferas

- ✓ Considera-se esferas um conjunto de pelo menos 4 células em diferentes focos na avaliação microscópica.
- ✓ Para ambas as linhagens, não houve diferença significativa no número de esferas nos tratamentos em relação aos controles.

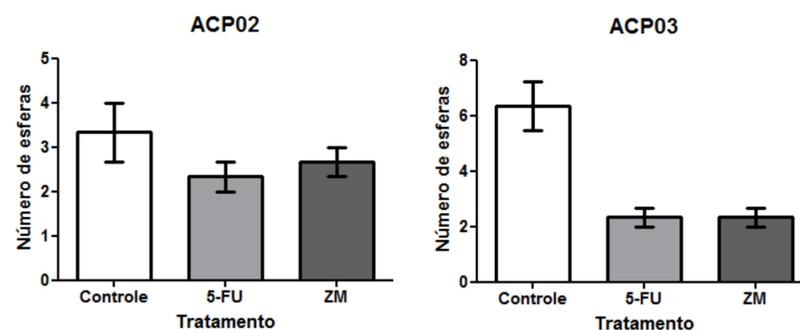


Fig. 2: Ensaio de formação de esferas com as linhagens ACP02 e ACP03 após exposição aos compostos experimentais. Não houve diferença significativa no número de esferas nos tratamentos em relação ao controle. Análise estatística realizada por teste t de Student. Valor de $p > 0,1$ observado para todos os tratamentos *versus* controle, em ambas as linhagens.

Ciclo celular

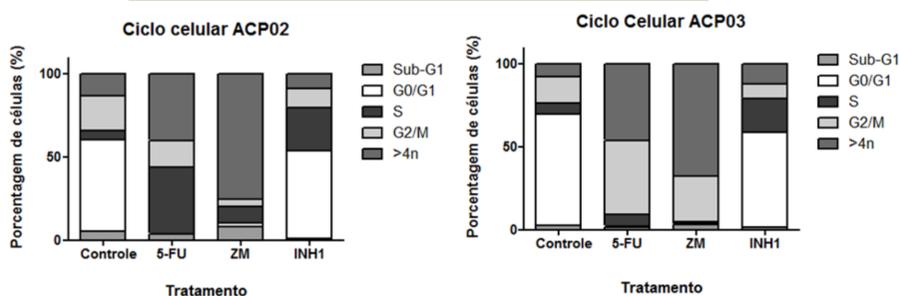


Fig. 3: Avaliação do ciclo celular em células das linhagens ACP02 e ACP03 após exposição aos compostos experimentais. Nas células de ambas as linhagens, houve uma redução de células nas fases G1 e S e um aumento de células poliplóides quando utilizado ZM. Após exposição ao composto INH1, as células de ambas as linhagens apresentaram um ciclo muito semelhante ao controle, com um pequeno aumento de células na fase S.

Conclusões

- ✓ Com esse trabalho observamos que o tratamento com o composto experimental ZM447439 causou um aumento de células poliplóides em ambas as linhagens estudadas, resultado que corrobora com estudo anterior (Ditchfield et al, 2003).
- ✓ Também observamos que o tratamento com esses compostos não levou a uma diferença na presença de esferas em ambas as linhagens utilizadas.